Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.15421/nvlvet8381
<http://nvlvet.com.ua/>

UDC 61:575.1.577.21[543.054:543.635.28]

The use of molecular-biological research methods to detect the falsification of livestock products

B.I. Nazar, H.V. Kushnir

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine

Article info

Received 07.02.2018
Received in revised form
09.03.2018
Accepted 14.03.2018

State Scientific-Research Control
Institute of Veterinary Medicinal
Products and Feed Additives,
Donetska str., 11, Lviv,
79019, Ukraine.
Tel.: +38-067-675-57-81
E-mail: bobnaz@ukr.net

Nazar, B.I., & Kushnir, H.V. (2018). The use of molecular-biological research methods to detect the falsification of livestock products. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. 20(83), 417–419. doi: 10.15421/nvlvet8381

The article provides information on the use of molecular research methods to determine the species belonging to the protein of animal and plant origin, the discovery of genetically modified plants to prevent the falsification of products. Actual problem is the identification and implementation of histological researches and methods of PCR control of meat products, which allow differentiating the constituent components of samples, since all meat products, passing the stage of technological processing, and in the finished form mainly preserve their morphological features. The use of genetic technology for analyzing the quality of food products for humans and animal feeds is conditioned by the need for a sensitive, rapid and accurate method to prevent and detect falsifications. The complexity of determining the species composition of the protein is that the heat-treated forages (meat-bone meal, fishmeal, granulated feed, dry and canned feeds for cats and dogs) contains denatured proteins that have completely lost their specificity. Methods, such as immune diffusion in gel, isoelectric focusing, used for the identification of raw meat, in this case are unsuitable. The use of the RID method does not make it possible to determine the specificity of animal proteins already after a heat treatment at 80 °C. for 30 minutes. Meanwhile, using molecular genetic techniques, in particular PCR, one percent of beef can be detected, which was heat treated at 120 °C for 10 minutes after 30 cycles of amplification and 0.1% after 35 cycles. The introduction of screening and confirmatory methods of PCR detection of counterfeit foodstuffs, feeds and feed materials allows for effective and prompt detection of cases of fraud, preventing the entry into the circulation of poor quality products and feed, reducing the productivity and poisoning of animals and, as a consequence, obtaining safe and high-quality livestock products.

Key words: molecular methods of research, PCR method, species differentiation of proteins of animal origin, genetically modified organisms.

Використання молекулярно-біологічних методів досліджень для виявлення фальсифікації продукції тваринництва

Б.І. Назар, Г.В. Кушнір

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок,
м. Львів, Україна

У статті висвітлено інформацію про використання молекулярних методів дослідження для визначення видової приналежності білка тваринного та рослинного походження, виявлення генетично-модифікованих рослин для недопущення фальсифікації продукції. Актуальною є проблема ідентифікації та проведення гістологічних досліджень і методів ПЛР контролю м'ясної продукції, які дають можливість диференціювати складові компоненти зразків, оскільки всі м'ясні продукти, проходячи стадію технологічної обробки, і в готовому вигляді переважно зберігають свої морфологічні особливості. Застосування генної технології для аналізу якості харчових продуктів для людей та кормів для тварин зумовлено потребою у чутливому, швидкому та точному методі для недопущення та виявлення фальсифікації. Складність визначення видової належності білка полягає в тому, що корми, які піддавались термічній обробці (м'ясо-кісткове борошно, рибне борошно, гранульовані комбікорми, сухі і консервовані корми для котів і собак), містять денатуровані білки, що повністю втратили видову специфічність. Такі методи як імунодифузія у гелі, ізоелектричне фокусування, які використовують для видової ідентифікації сирого м'яса, у цьому випадку непридатні. Використання мето-

ду РІД не дає змоги визначити видову належність білків тваринного походження уже після термічної обробки за 80 °С протягом 30 хв. Тимчасом за допомогою молекулярно-генетичних методів, зокрема ПЛР, можна виявити 1% яловичини, яка піддавалась термічній обробці за температури 120 °С протягом 10 хвилин після 30 циклів ампліфікації і 0,1% – через 35 циклів. Впровадження скринінгових та підтверджуючих методів ПЛР виявлення фальсифікованих продуктів харчування, кормів та кормової сировини дозволяє ефективно та оперативно виявляти випадки фальсифікації, запобігати потраплянню в обіг неякісних продуктів та кормів, зниженню продуктивності й отруєння тварин та, як наслідок, отримувати безпечну і якісну продукцію тваринництва

Ключові слова: молекулярні методи досліджень, метод ПЛР, видова диференціація білків тваринного походження, генетично-модифіковані організми.

Вступ

Безпека та якість харчових продуктів для людей і кормів для тварин має бути пріоритетним напрямком діяльності спеціалістів ветеринарної медицини, що базується на впровадженій комісією Codex Alimentarius спільно з Всесвітньою організацією охорони здоров'я (WHO) програмі харчових стандартів, метою якої є захист здоров'я споживачів і недопущення фальсифікації продукції. Нешкідливі та безпечні харчові продукти можуть бути отримані виключно від здорових тварин, які утримувались у відповідних санітарно-гігієнічних умовах при мінімальному стресі (Simonenko et al., 2007; Zakrevskij, 2006).

На превеликий жаль, виробники продукції замінюють м'ясо не тільки продуктами рослинного походження (соевим борошном), а й фальсифікатами – низькосортним м'ясом, субпродуктами птиці, свинячими шкурками та органами і тканинами, які взагалі не повинні застосовуватись у харчовій промисловості. Досі не існує єдиної схеми контролю якості цієї продукції, не розроблені ДСТУ і СОУ, які б обмежували чи забороняли застосування генетично модифікованих продуктів рослинного походження, не впроваджені спеціальні методи контролю в лабораторіях ветеринарно-санітарної експертизи. У зв'язку з цим актуальною є проблема ідентифікації та проведення гістологічних досліджень і методів ПЛР контролю м'ясної продукції, які дають можливість диференціювати складові компоненти зразків, оскільки всі м'ясні продукти, проходячи стадію технологічної обробки, і в готовому вигляді переважно зберігають свої морфологічні особливості.

Результати та їх обговорення

У фальсифікованих кормах і кормових добавках фактичний вміст компонентів не відповідає задекларованому значенню та маркуванню, оскільки містять незадекларовані компоненти та заборонені до використання ветеринарні препарати і субстанції. Найчастіше в даний час зустрічається фальсифікація високобілкових компонентів – рибного борошна, шроту соєвого, кормових добавок. Фальсифікація комбікормів, білково-вітамінно-мінеральних добавок, преміксів часто відбувається через внесення фальсифікованих компонентів, часом несвідомо без відома виробника через недостатній контроль вхідної сировини, а також шляхом внесення недозволених до застосування компонентів, найчастіше антибіотиків. До фальсифікованих слід відносити й комбікорми, в яких показники якості не відповідають задекларованим значенням.

Найпоширенішим способом фальсифікації рибного борошна є внесення дешевших компонентів для заміни білка: сечовини (карбаміду) або інших джерел неорганічного азоту, м'ясо-кісткового, м'ясного борошна, пир'яного борошна, білка рослинного походження (соє, висівки тощо). Зрозуміло, що таке фальсифіковане рибне борошно у кращому разі втрачає свої поживні та споживчі властивості, а в гіршому – становить небезпеку отруєння тварин та птиці при внесенні карбаміду та поширення небезпечних пріонних захворювань при внесенні м'ясо-кісткового борошна сумнівного походження.

Останнім часом почастішали випадки фальсифікації продуктів переробки соєвих бобів, а особливо соєвого шроту. Фальсифікація цих продуктів здійснюється шляхом внесення до їхнього складу більш дешевших компонентів пшеничної, горохової дерті, висівки, кукурудзяної макухи, соняшникового, ріпаків шроту та інших продуктів переробки зернових, а для імітації високого рівня протеїну – додаванням джерел неорганічного азоту – карбаміду та інших. Останніми роками в багатьох країнах було зафіксовано випадки отруєння тварин при внесенні до складу кормів білкових компонентів китайського походження, що містили меламін.

В останні роки масового використання набули генетично модифіковані організми як джерело кормів у годівлі тварин. Однак в Україні та інших країнах дозволено застосування лише зареєстрованих ГМО джерел. Тому використання незареєстрованих ГМО джерел кормів, а також відсутність інформованості споживача про вміст ГМО в кормах слід розцінювати як фальсифікацію.

Застосування генної технології для аналізу якості харчових продуктів для людей та кормів для тварин зумовлено потребою у чутливому, швидкому та точному методі для недопущення та виявлення фальсифікацій. Відносно новим напрямом використання ДНК-технологій у практиці тваринництва є видова диференціація білків тваринного походження у харчових продуктах і кормах, які піддавались термічній обробці. Значення цього напрямку суттєво зросло у зв'язку з виявленням пріонних захворювань у сільськогосподарських та домашніх тварин.

Складність визначення видової належності білка полягає в тому, що корми, які піддавались термічній обробці (м'ясо-кісткове борошно, рибне борошно, гранульовані комбікорми, сухі і консервовані корми для котів і собак), містять денатуровані білки, що повністю втратили видову специфічність. Такі методи як імунодифузія у гелі, ізоелектричне фокусування, які використовують для видової ідентифікації сирого м'яса, у цьому випадку непридатні. Використання

методу РІД не дає змоги визначити видову належність білків тваринного походження уже після термічної обробки за 80 °С протягом 30 хв. Тимчасом за допомогою молекулярно-генетичних методів, зокрема ПЛР, можна виявити 1% яловичини, яка піддавалась термічній обробці за температури 120 °С протягом 10 хвилин після 30 циклів ампліфікації і 0,1% – через 35 циклів.

Нині розроблено тест-систему для визначення видової приналежності м'ясних інгредієнтів у кормах і рибному борошні методом ПЛР, що дає змогу виявити домішки м'ясного борошна з масовою часткою 0,1% у складі рибного борошна, визначити видову належність тканин жуйних тварин у комбікормах для сільськогосподарських тварин і птиці, сухих і консервованих кормах для домашніх тварин, сирих м'ясних продуктах і продуктах, які піддавались кулінарній обробці.

Важливим напрямом використання ДНК-технологій є виявлення продуктів, отриманих після використання генно-інженерних методів (Lynch, 1990). Найбільшою мірою це стосується продуктів рослинного походження, оскільки отримання трансгенних тварин, незважаючи на майже 20-річний досвід людства у їх конструюванні, залишається високо-вартісною процедурою. Загалом генетично модифікованими були приблизно 70 різних видів рослин. Це сприяє зменшенню на 25% внесення гербіцидів, на 5–10% – підвищенню врожайності культур. Хоча конкретних прикладів серйозної екологічної небезпеки трансгенних сортів і гібридів у природному середовищі не виявлено, їхня потенційна небезпека до кінця не вивчена. Прогнози будуються наразі не на фактич-

них даних, а на основі загально-біологічних закономірностей.

Висновки

Впровадження скринінгових та підтверджуючих методів ПЛР виявлення фальсифікованих продуктів харчування, кормів та кормової сировини дозволяє ефективно та оперативно виявляти випадки фальсифікації, запобігати потраплянню в обіг неякісних продуктів та кормів, зниженню продуктивності й отруєння тварин та, як наслідок, отримувати безпечну і якісну продукцію тваринництва.

References

- Zakrevs'kij, V.V. (2006). Geneticheskii modifitsirovannyye istochniki pishhi rastitel'nogo proishozhdeniya. Prakticheskoe rukovodstvo po sanjepidnadzoru. SPb: Diamat (in Russian).
- Simonenko, S.V., Felik, S.V., & Antipova, T.A. (2007). Kontrol' za sodержaniem genno-modifitsirovannyh istochnikov (GMI) v produktah dets-kogo pitaniya. Sovremennyye tehnologii proizvodstva i pere-rabotki sel'skhozajstvennogo syr'ya dlja sozdaniya konkurentosposobnosti pishhevyh produktov. Volgogr. nauch.-issled. tehnol. in-t mjaso-moloch. skotovodstva i pere-rabotki produktsii zhivotnovodstva. 1, 52–54 (in Russian).
- Lynch, J. (1990). PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification. J Med Genet. 27(8), 536. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1017212>.